

유통 축산물 중 대장균의 분리 및 특성에 관한 연구

곽현정[†] · 이우원 · 이승미 · 이강록 · 이동수

축산물 위생검 사소

Characterization of *Escherichia coli* Isolated from Meat and Meat Products

Hyun-Jeong Kwak[†], Woo-Won Lee, Seung-Mi Lee, Gang-Rok Lee and Dong-Soo Lee

Veterinary Service Laboratory

Abstract

The present study was conducted to investigate characteristics and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates from 602 meat and meat products in Busan province from February 2006 to June 2006.

Among 602 samples, 117 (19.4%) *E. coli* isolates were isolated from 392 non heated meats (29.8%) and 210 heated meat products (0%).

In biochemical properties, many strains were positive for maltose (99.2%), p-coumaric resistance (98.3%), xylose (97.4%), sorbitol (94.9%), lysine decarboxylase (92.3%), rhamnose (86.3%) and a few strains were positive for urea hydrolysis, hydrogen sulfide.

In antimicrobial susceptibility test, all the isolates were resistant to penicillin. The isolates were resistant to other antibiotics in order of carbenicillin (82.9%), tetracycline (76.1%), doxycycline (54.7%) and streptomycin (44.4%). The isolates resistant to amikacin, amoxicillin, cefazolin were less than 10%, respectively.

All the isolates were resistant to one or more drugs tested. 60 (51.3%) of 117 isolates were resistant to more than 5 drugs.

Key Words: *Escherichia coli*, biochemical properties, antimicrobial susceptibility

서 론

근래에는 식생활의 변화에 따라 식품 중 축산식품이 차지하는 비중이 꾸준한 증가추세를 보이고 있으며 축산물의 소비증가와 수입자유화에 따른 식육의 안전성문제가 대두되고 있어 생산에서부터 소비에 이르기까지 모든 과정에 위해요소중점과제 (Hazard Analysis Critical Control Point; HACCP) 등을 도입하여 축산물의 안전성 확보가 시급한 실정이다^{1,8)}. 축산물은 가축이 여러 종류의 인수공통전염병에 감염되어있는 상태로 도축되거나 도축처리 과정에서 병원성 세균을 포함한 각종 미생물에 오염되어 품질이 저하되는데, 이러한 축산물은 각종 전염병과 식중독의 원인이 될 뿐만 아니라 축산물 보존성에도 큰 영향을 미친다. 건강한 가축의 근육 내는 무균상태이지만 도축 시 체표면 또는 분변에 의하여 각종 세균에 오염될 수 있다¹⁹⁾.

대장균은 자연계, 사람 및 동물의 장내에 광범위하게 분포되어 있는 Gram 음성의 lactose를 분해하는 짧은 간균으로 통성혐기성 세균으로 알려져 있다. 대장균은 1885년 Theodor

Escherich가 처음으로 대장균을 분리하여 *Escherichia coli*로 명명하였고²⁾, 대장부위에 상재하는 세균으로 대부분 비병원성이지만 일부는 사람과 어린 동물에서 다양한 장 질병과 설사 증상을 유발하는 것으로 밝혀져 있다. 대장균의 혈청형은 약 10,000종 이상이 알려져 있으나 현재까지 완전히 규명된 것은 수천 종에 불과하며⁹⁾, 이들 대장균 중 사람과 동물에 병원성을 가진 대장균의 혈청형은 수십 종에 불과하다. 대장균의 종류는 특신, 부착인자의 생산능력, 임상증상 등을 기초로 하여 장관병원성 대장균 (Enteropathogenic *E. coli*; EPEC), 장관독소원성 대장균 (Enterotoxigenic *E. coli*; ETEC), 장관침입성 대장균 (Enteroinvasive *E. coli*; EIEC), 장관출혈성 대장균 (Enterohemorrhagic *E. coli*; EHEC) 등 주요 4군으로 분류한다^{4,7)}. 동물에서는 1893년 Jensen이 송아지 설사증의 원인이 대장균이라는 것을 보고한 이후 enterotoxin, pili 항원, R plasmid 등 대장균의 병원성 인자들이 주요 연구대상이 되고 있다²⁾. 국내에서도 이들 대장균이 음수나 축산식품에 오염되어 식중독과 설사증을 유발할 위험성이 높아 사람을 비롯하여 소, 돼지 등 가축을 대상으

[†] Corresponding author. E-Mail: 78ilapple@hanmail.net
Phone: 051-331-0095, Fax: 051-338-8266

Table 1. Isolation rates of *E. coli* isolates from meat and meat products

Class	Kind of meat	No. of samples tested	No. of samples isolated (%)
Non-heated (Raw-meat)	Beef	361	108 (29.9)
	Pork	17	2 (11.8)
	Chicken	3	1 (33.3)
	Duck meat	11	6 (54.5)
Heated (Meat product)		210	0 (0)
Total		602	117 (19.4)

Table 2. Biochemical characteristics of 117 *E. coli* isolated from meats

Characteristics	No. of positive culture (%)	Characteristics	No. of positive culture (%)
Acetamide	0 (0)	Lysine decarboxylase	108 (92.3)
Arginine dihydrolase	58 (49.6)	Methyl red	117 (100)
Citrate	0 (0)	Ornithine decarboxylase	74 (63.2)
DP-300 resistance	0 (0)	P-coumaric resistance	115 (98.3)
Esculin hydrolysis	57 (48.7)	Polymyxin B resistance	0 (0)
H ₂ S	2 (1.7)	Urea hydrolysis	3 (2.6)
Indole	117 (100)	Voges Proskauer	0 (0)

Table 3. Carbohydrate fermentation test of 117 *E. coli* isolated from meats

Characteristics	No. of positive (%)	Characteristics	No. of positive (%)
Adonitol	0 (0)	Mannitol	117 (100)
Glucose	117 (100)	ONPG hydrolysis	117 (100)
Indoxyl- β -D-glucoside oxidation	0 (0)	Raffinose	61 (52.1)
Inositol	0 (0)	Rhamnose	101 (86.3)
Lactose	117 (100)	Sorbitol	111 (94.9)
L-arabinose	117 (100)	Sucrose	74 (63.2)
Malonate	0 (0)	Xylose	114 (97.4)
Maltose	116 (99.2)		

로 많은 연구가 보고된 바 있다^{11,14,15}.

대장균에 의한 감염증으로 의학분야에서는 급성위장염 및 콜레라성 설사, 이질증후군, 유아 수막염 및 패혈증, 요로 감염증 등을 일으키고¹¹, 수의학 분야에서는 송아지의 패혈증 및 설사, 자돈의 설사 및 부종병, 자양의 패혈증 및 설사, 병아리의 패혈증 등을 일으키며 조류에서는 주로 호흡기 감염에 의한 급성패혈증, 심낭염, 수관관염, 복막염 등을 일으켜 축산업에 큰 경제적 손실을 초래하는 것으로 알려져 있다¹⁰.

가축에 있어 대장균에 관한 연구는 설사증과 닭 대장균증 등에 대해서는 비교적 많이 있으나 유통 중인 축산물에 대해서는 미흡한 실정이다. 따라서 본 실험에서는 유통 중인 축산물에서 대장균을 분리한 후 분리주의 생화학적 특성, 약제감수성 등을 조사하여 위생적인 축산물관리에 필요한 기초자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

공시 재료 및 동정 시험

2006년 2월부터 2006년 6월까지 부산지역에서 유통 중인 식육 및 식육가공품을 균 분리 재료로 사용하였다.

대장균 분리

세균분리는 Edwards와 Ewing의⁹ 방법을 참고하여 분리하였다. 시료 약 5 g씩 평량하여 45 mL의 modified tryptic soy broth (mTSB, Merck, Germany)를 첨가하여 stomachor (IUL, Spain)로 약 1분간 균질화한 후 37°C에서 18~24시간 증균배양하였다. 증균배양한 다음 MacConkey agar에 접종하여 37°C에서 18~24시간 선택배양한 후 lactose를 분해하는 집락을 선정하여 반유동 한천배지에 천자배양으로 보존하면서 실험에 사용하였다.

생화학적 동정시험

분리된 의심스런 대장균은 triple sugar iron agar 시험, IMViC 시험을 거쳐 대장균과 성상이 유사한 균주를 대상으로 미생물분리동정기 (BioMerieux, France)에서 acetamide, arginine dihydrolase, esculin hydrolysis, adonitol, inositol, malonate 분해 등 26종의 생화학적 성상시험을 실시하여 대장균을 동정하였다.

항균제감수성 시험

동정된 대장균에 대한 항균제감수성 시험은 Bauer 등¹²의

Table 4. Antimicrobial resistance of 117 *E. coli* isolated from meats

Antimicrobials	No. (%) of isolates with indicated antimicrobial susceptibility		
	Resistance	Intermediate	Susceptibility
Amikacin (AN)	7 (6.0)	40 (34.2)	70 (59.8)
Amoxicillin (AmC)	5 (4.3)	28 (23.9)	84 (71.8)
Ampicillin (AM)	40 (34.2)	47 (40.2)	30 (25.6)
Carbenicillin (CB)	97 (82.9)	19 (16.2)	1 (0.9)
Cephalothin (CF)	10 (8.5)	49 (41.9)	58 (49.6)
Cefazolin (CZ)	7 (6.0)	40 (34.2)	70 (59.8)
Chloramphenicol (C)	25 (21.4)	4 (3.4)	88 (75.2)
Doxycycline (D)	64 (54.7)	38 (32.5)	15 (12.8)
Gentamicin (GM)	14 (12.0)	21 (17.9)	82 (70.1)
Kanamycin (K)	29 (24.8)	58 (49.6)	30 (25.6)
Nalidixic acid (NA)	22 (18.8)	3 (2.6)	92 (78.6)
Neomycin (N)	27 (23.1)	62 (53.0)	28 (23.9)
Penicillin (P)	117 (100)	0 (0)	0 (0)
Streptomycin (S)	52 (44.4)	64 (54.7)	1 (0.9)
Tetracycline (Te)	89 (76.1)	27 (23.1)	1 (0.9)
Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT)	24 (20.5)	3 (2.6)	90 (76.9)

disc diffusion method에 의해 실시하였다.¹²⁾ 대장균은 tryptic soy broth (TSB; Difco, USA)에 접종하고 37°C에서 24시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5의 농도와 일치시킨 것을 Mueller Hinton agar (Merck, Germany) plate에 도말하여 항균제 disc (BBL, USA)를 접종한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disc 주위 억제대를 측정하여 항균제에 대한 감수성 유무를 결정하였다.

감수성 시험에 사용한 항균제는 amikacin (30 µg), amoxicillin (30 µg), ampicillin (10 µg), carbenicillin (100 µg), cephalothin (30 µg), cefazolin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), doxycycline (30 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), nalidixic acid (30 µg), neomycin (30 µg), penicillin (10U), streptomycin (10 µg), tetracycline (30 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (23.75/1.25 µg) 등 16종으로 이에 대한 감수성을 조사하였다. 감수성유무는 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)[®]의 기준에 따라 판정하였다.

결과 및 고찰

대장균의 분리율

가열 및 비가열 축산물로부터 분리한 대장균의 분리율은 Table 1에서와 같이 총 602건 중 19.4% (117건) 이었다. 가열된 축산물가공품에서는 대장균이 분리되지 않았다. 비가열 축산물 (주로 절단된 식육)에서 분리율은 29.8% (117건/392건) 이었고, 축종별 분리율은 오리고기에서 54.5% (6건/11건)로 분리율이 가장 높았으며, 닭고기 33.3% (1건/3건), 쇠고기 29.9% (108건/361건) 및 돼지고기 11.8% (2건/17건)순으로 높은 분리율을 나타내었다.

오리고기와 닭고기의 분리율이 높은 것은 우선 도계 시 여러 과정을 거치는 동안 서로 교차오염에 의한다고 볼 수 있으며

유통 시 운반, 차량 등에 의하여 재오염 기회가 있었다고 볼 수 있다. 또한 쇠고기에서도 분리율이 높은 것은 공시된 시료가 대부분 분쇄 또는 잘게 절단된 상태였으므로 칼, 도마 또는 작업환경 등 유통단계에서 오염기회가 높아진 것으로 판단된다.

대장균의 생화학적 특성

공시재료로부터 분리된 대장균 117주에 대하여 생화학적 성상시험을 실시한 결과는 Table 2와 같았다. Acetamide, arginine dihydrolase, citrate, DP-300 resistance, esculin hydrolysis, ornithine decarboxylase, polymyxin B resistance, Voges-Proskauer 시험에서 모두 음성하였고, H₂S 시험에서 2주 (1.7%), urea hydrolysis 시험에서 3주 (2.6%)가 음성반응을 나타내었다. Indole, methyl red 시험은 모두 양성하였고 P-coumaric resistance 시험은 76주 (96.2%), lysine decarboxylase 시험은 68주 (86.1%)가 양성으로 나타났다.

당분해 시험은 Table 3에서와 같이 in doxyl-β-D-glucoside oxidation, inositol, malonate 시험에서 모두 양성이었다. Glucose, lactose, L-arabinose, mannitol, ONPG hydrolysis 시험에서 모두 양성하였고, maltose 시험은 116주 (99.2%), sorbitol 시험은 111주 (94.9%), xylose 시험은 114주 (97.4%)가 양성반응을 나타내었으며 raffinose 시험은 61주 (52.1%), rhamnose 시험은 101주 (86.3%), sucrose 시험은 74주 (63.2%)가 양성으로 나타났다.

생화학적 성상시험을 실시한 결과 Ewing[®]의 *E. coli*에 대한 성상시험에서 raffinose 51.5%, sorbitol 81.3%, sucrose 59.2% 보다 다소 높은 양성율을 나타내었고, 김 등³⁾의 설사병에 감염된 자돈의 병원성 대장균에 대한 성상시험에서 raffinose 53.0%, sucrose 47.0% 보다 높은 양성율을 나타내었다. 한편 Ewing[®]의 시험에서 esculin 50.6%, arginine dihydrolase 55.4%, ornithine decarboxylase 65.8% 보다

다소 낮았고, 김 등⁹⁾의 시험에서 arginine dihydrolase 44.0% 보다 높았으나, ornithine decarboxylase 70.1% 보다 낮은 양성율을 나타내었다.

항생제감수성 시험

비가열 축산물로부터 분리된 117주의 대장균에 대한 항생제 감수성 시험 결과 Table 4와 같이 16종 중에서 penicillin (100%)에 완전 내성을 나타내었고, carbenicillin (82.9%), tetracycline (76.1%), doxycycline (54.7%), streptomycin (44.4%) 등의 순으로 높은 내성을 나타내었다. 각종 약제에 대한 분리균의 내성양상을 조사한 결과 모든 균주 (100%)가 단제이상 약제에 대하여 내성을 나타내었고 5제이상 내성은 60주 (51.3%)로 나타났다.

항생제감수성 시험 결과는 김 등¹⁰⁾이 1977년에서 1979년 사이에 실험한 야외분리 대장균들에 대한 항생제 저항성 결과인 penicillin 96.1%, tetracycline 86.7% 등과는 유사하였고, streptomycin 88.3% 보다는 낮았다. 김 등⁶⁾이 다른 지역에서의 결과인 ampicillin 95.2%, penicillin 96.8%, streptomycin 77.4%, tetracycline 93.5% 보다는 다소 낮았다. 함 등¹¹⁾이 포유자돈의 소장에서 분리 보고한 결과인 penicillin 98.8%와는 일치하였고, ampicillin 86.9%, streptomycin 84.5%, tetracycline 98.8% 보다는 현저히 낮았다. 또한 임 등¹²⁾이 송아지 설사분변으로부터 분리 보고한 결과인 tetracycline 76.1%와 일치하였으나 ampicillin 57.7%, streptomycin 69.2% 보다는 다소 낮게 나타났다.

동물의 질병치료 및 예방 목적으로 사용되는 항생물질의 남용과 오용으로 인한 내성균 특히 다제내성균의 출현으로 질병 치료에 많은 문제를 일으키고 있다. 특히 본 실험의 결과에서 높은 내성율은 소와 돼지 등이 내성율이 높은 대장균에 감염되어 식육으로 오염되었을 것으로 사료된다. 특히 본 연구에서 5제이상의 약제에 대한 내성율이 51.3%로 나타나 비록 병원성이 없다 할지라도 사람이 섭취할 경우 약제에 대한 내성을 전달 받게 되어 공중보건학적 문제점을 유발하게 된다. 따라서 농장에서 식탁까지 모든 과정에 HACCP를 도입하여 보다 위생적인 가축 사육 및 도축은 물론 유통단계까지 철저히 관리하여 축산물의 안전성 확보가 되어야 할 것이다.

결 론

2006년 2월부터 2006년 6월까지 부산지역에서 유통 중인 식육 및 식육가공품을 대상으로 대장균을 분리하고 그 특성을 조사한 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 가열 및 비가열 축산물로부터 분리한 대장균의 분리율은 총 602건 중 19.4% (117건) 이었고, 가열된 축산물가공품에서는 대장균이 분리되지 않았으며, 비가열 축산물 (식육)에서 분리율은 29.8% (117건/392건)이었다.

2. 축종별 분리율은 오리고기에서 54.5% (6건/11건)로 분리

율이 가장 높았으며, 닭고기 33.3% (1건/3건), 쇠고기 29.9% (108건/361건) 및 돼지고기 11.8% (2건/17건)순으로 높은 분리율을 나타내었다.

3. 생화학적 특성은 acetamide, arginine dihydrolase, citrate, DP-300 resistance, esculin hydrolysis, ornithine decarboxylase, polymyxin B resistance, Voges-Proskauer 음성이었고, Indole, methyl red 양성으로 나타났다.

4. 당분해능은 indoxyl- β -D-glucoside oxidation, inositol, malonate 음성이었고, glucose, lactose, L-arabinose, mannitol, ONPG hydrolysis 양성이었다.

5. penicillin (100%)에 완전 내성을 나타내었고, carbenicillin (82.9%), tetracycline (76.1%), doxycycline (54.7%), streptomycin (44.4%) 등의 순으로 높은 내성을 나타내었다. 내성양상은 모든 균주 (100%)가 단제이상 약제에 대하여 내성을 나타내었고, 5제이상 내성은 60주 (51.3%)로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Bauer, A. W., Kirby, W. M.M., Sherris, J. S. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method", Am J Clin Pathol, 45, 493-496(1966).
2. Biberstein, E. L., Yuan, C. Z. : Review of Veterinary Microbiology. Black-well Scientific Publications Inc, Boston, pp.103-109(1990).
3. Carter, G. R., Chengappa, M. M., Roberts, A. W. et al. : In: Proceedings of the 5th Essentials of veterinary microbiology. Williams & Wilkins, Baltimore, pp.151-165(1995).
4. Chae C. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Korean J Vet Res. 33:567-572(1993).
5. Ewing, W.H. : The genus *Escherichia*. In: Proceedings of the 4th Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, Elsevier Science, New york, pp.93-97(1986).
6. Kim BH, Rhee JC, Kim DS. The in vitro drug resistance of *Escherichia coli* isolated from piglets, calves, lamb and goats with diarrhea. Korean J Vet Res. 19:121-126(1972).
7. Nataro JB, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Korean J Clin Microbiol Rev. 11:142-201(1998).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for

- antimicrobial disc susceptibility tests. 6th ed. Approved standard. NCCLS. 18(1):M2-A6(1988).
9. 김봉환, 김동성, 이창구, “자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구”, 대한수의학회지, 21(2): 81-86(1981).
 10. 김봉환, 이재진, 김기석 등. 동물유래 병원성세균의 각종 항생물질에 대한 감수성 조사. 대한수의학회지. 120:85-92(1980).
 10. 서동균, 최원필, 박노찬, “비둘기 유래 대장균의 생물화학적 특성에 대하여”, 대한수의학회지, 30(4), 427-434(1990).
 11. 송희중, 채효석, “가축에서 대장균 감염증”, 한국가축위생학회지, 21(4), 413-429(1998).
 12. 이현준, 최원필. “동물유래의 citrate 이용대장균 변이주에 관하여”, 대한수의학회지, 23(2), 173-178(1983).
 13. 임금기, 강문일, 김상기 등. 송아지 설사분변으로부터 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*의 분리 및 특성규명. 대한수의학회지. 46(2):135~142(2006).
 14. 정수관, 정석찬, 최원필, “돼지 유래 대장균의 생물학적 특성과 plasmid profile에 대하여”, 대한수의학회지, 30(3), 287-295(1990).
 15. 탁연빈, “계 유래 *Escherichia coli*의 항생물질내성 및 R인자의 분포”, 대한수의학회지, 17(1), 1-4(1977)
 16. 함희진, 민경섭, 채찬희, 포유자돈 소장에서 분리된 대장균의 생화학 성상과 항생제 감수성 결과. 대한수의학회지. 37(4):773-777(1997).
 17. 홍중해. 국내에서 보고된 동물성 식품 유래 식중독의 역학적 발생 특징. 한국수의공중보건학회지. 18(2):147-154(1994).
 18. 홍중해. HACCP 제도의 도입과 그 대응 방안. 제1회 수의 정책개발 심포지움. 대한수의사회. 21-36(1995).